

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関  
国際事務局



(43)国際公開日  
2001年6月7日 (07.06.2001)

PCT

(10)国際公開番号  
WO 01/40234 A1

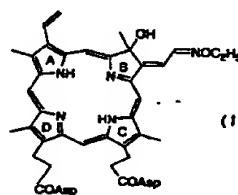
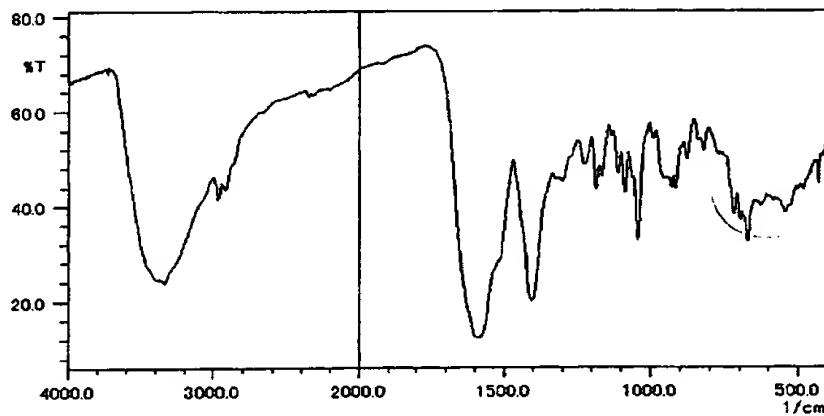
- (51)国際特許分類\*: C07D 487/22, A61K 31/395, 49/00, A61P 35/00
- (21)国際出願番号: PCT/JP00/08386
- (22)国際出願日: 2000年11月29日 (29.11.2000)
- (25)国際出願の言語: 日本語
- (26)国際公開の言語: 日本語
- (30)優先権データ:  
特願平11/339330  
1999年11月30日 (30.11.1999) JP
- (71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 株式会社  
光ケミカル研究所 (PHOTOCHEMICAL CO., LTD.)  
[JP/JP]; 〒701-1221 岡山県岡山市芳賀5319番地の1  
Okayama (JP).
- (72)発明者; および  
(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 阪田 功
- (SAKATA, Isao) [JP/JP]; 〒700-0086 岡山県岡山市津島西坂1丁目2番35 Okayama (JP). 中島 進 (NAKAJIMA, Susumu) [JP/JP]; 〒078-8305 北海道旭川市緑ヶ丘5条4丁目4番地の34 Hokkaido (JP). 仲江良則 (NAKAE, Yoshinori) [JP/JP]; 〒703-8244 岡山県岡山市藤原西町2丁目2番35-3号 Okayama (JP).
- (74)代理人: 草間 攻 (KUSAMA, Osamu); 〒102-0072 東京都千代田区飯田橋4丁目5番12号 岩田ビル7階 草間特許事務所 Tokyo (JP).
- (81)指定国(国内): AU, CA, JP, KR, US.
- (84)指定国(広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

添付公開書類:  
— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: PORPHYRIN COMPOUND

(54)発明の名称: ポルフィリン化合物



(57) Abstract: A porphyrin compound of formula (I), useful in photodynamic diagnosis and/or therapy of animals; and agents for photodynamic diagnosis and/or therapy of animals, containing the compound, wherein Asp is an aspartic acid residue.

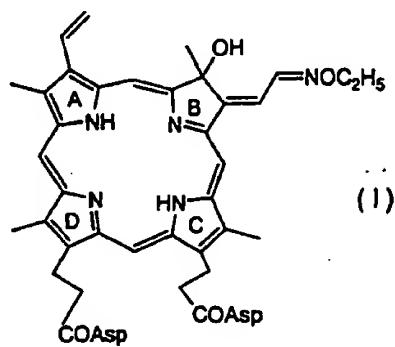
/統葉有/

WO 01/40234 A1



(57) 要約:

次式 (I) :



(式中、Aspは、アスパラギン酸残基を表す。)

で示される、動物用の光物理化学的診断及び／又は治療用に使用されるポルフィリン化合物、並びに、前記ポルフィリン化合物を用いた動物用の光物理化学的診断及び／又は治療剤を提供する。

## 明細書

## ポルフィリン化合物

## 5 技術分野

本発明は、ポルフィリン化合物に係り、特に、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物、またはその薬理学的に許容される塩に関する。さらに本発明は、当該ポルフィリン化合物を有効成分とする特に動物の腫瘍に対する、光物理化学的な診断および／または治療剤に関する。

10

## 背景技術

癌の新しい治療法として、最近、光物理化学的診断・治療法（PDT：Photodynamic Therapy）が脚光を浴びてきている。これは、ある種のポルフィリン誘導体を静脈注射などの方法により投与し、癌細胞に選択的に15 集積させた後、レーザー光を照射することにより、癌細胞のみを破壊するというものであり、ポルフィリン誘導体が有する癌細胞への選択性と光増感作用という二つの性質を利用した療法である。

現在このPDTに臨床的に使用されている唯一のポルフィリン誘導体は、ポルフィマーナトリウムである。このポルフィマーナトリウムはヘマトポルフィリン誘導体のエーテル体および／またはエステル体からなる2～6量体のポリマーとしての混合物である。ポルフィマーナトリウムは、人体に投与した場合の副作用として、一時的な光過敏症を引き起こすことが知られている。また、ポルフィマーナトリウムの癌細胞への選択性はいまだ十分なものとはいえず、正常細胞への集積性も認められている。

25 したがって、ポルフィマーナトリウムの投与を受けた患者は、正常細胞に集積したポルフィマーナトリウムによる光増感作用で、正常細胞が破壊されないよう

に、ポルフィマーナトリウムが体内から完全に排泄されるまで、長時間に渡って暗所に留まることが必要である。この場合、ポルフィマーナトリウムの正常細胞からの排出速度が遅いため、時として6週間以上にも渡って光過敏症が残ることが報告されている。

5 加えて、ポルフィマーナトリウムによるPDTでは、使用されるレーザー光の組織透過性についても問題が内在している。すなわち、ポルフィマーナトリウムは、その最長波長吸収端が630 nmであり、モル吸光係数も3,000と低い。この場合、生体にはオキシヘモグロビンや水のように光の透過を妨げる成分が多く存在し、この630 nmのレーザー光は組織への透過性が悪く、10 深部まで十分透過しないことにより、ポルフィマーナトリウムを使用したPDTの対象は、5～10 mmの表層癌に限定されている。

生体成分による光吸収の影響が最も少ない波長は、650～750 nmであることからみれば、この波長間に最長波長吸収端をもつPDT用光増感剤が最も好ましいものといえる。

15

一方、レーザー装置についても種々の問題がある。現在最もよく使用されている色素レーザーは、レーザー光自体の安定性が悪く、運用上取り扱いが難しい。これに対してチタンサファイヤレーザーを用いれば、運用がかなり簡単になるが、このレーザーを使用する場合には励起可能な波長が670 nm以上および620 nm以下に限られており、630 nm付近に吸収波長をもつポルフィマーナトリウムには適用できない。

最近、半導体レーザー(670 nm)が開発され、670 nm付近に吸収をもつ化合物にも適用できるようになり、さらに最近になってOPO-YAGレーザーが開発され、ほとんどの可視波長をカバーできることがわかっている。

25

以上のように、現在使用されているPDT用の光増感剤には種々の問題点があ

り、したがって、これらの問題点を解決した、新しい薬剤の開発が強く望まれていた。その結果、単一化合物であり、かつ、より長波長領域（650～800 nm）に吸収をもつポルフィリン化合物が、第二世代の薬物として提案されてきている。

5 そのような第二世代の薬物としては、プロトポルフィリン前駆体であるアミノレブリン酸（ALA）、クロリン誘導体としてアスパルチルクロリンe6（NPe6）、血色素由来のポルフィリンから構造変換された新規クロリン誘導体としてのベンゾポルフィリン誘導体（BPD）、ならびにメタテトラヒドロキシフェニルクロリン（m-THPC）などである。

10 本発明者らも先に、クロリン誘導体とそのアナログ体であるアルコキシミノクロリンアスパラギン酸誘導体を提案（特開平5-97857号、特開平9-124652号）しており、これらの化合物は、PDT用の光増感剤として有効なものであることを確認している。

15 ところで、哺乳類については、ヒトに限らず動物の世界でも癌に対する罹患が問題となり、特に家庭内で飼育されるペット動物における癌が大きな問題となりつつある。これら動物における癌の治療は、ヒトに対する治療法と変わることろがなく、抗癌剤の投与、放射線療法などの治療が行われている。

かかる現状を踏まえ、本発明者らは動物に対する効果的な癌治療法の検討を進  
20 めた結果、先に提案したアルコキシミノクロリンアスパラギン酸誘導体の中でも、特にエトキシミノクロリンアスパラギン酸誘導体が、動物用のPDT用光增感剤として極めて有効なものであることを確認し、本発明を完成させるに至った。

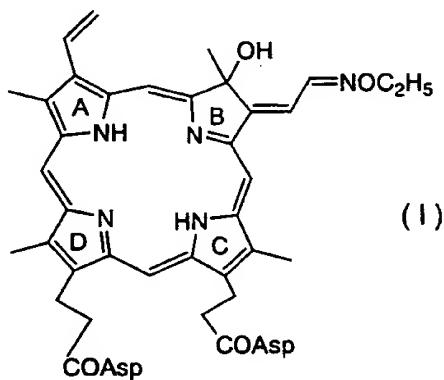
したがって本発明は、特に、動物用の光物理化学的診断および／または治療用  
25 に使用されるポルフィリン化合物を提供することを課題とする。

また本発明はさらに、当該ポルフィリン化合物を有効成分とする、動物用の光

物理化学による診断および／または治療剤、特に、動物の腫瘍の診断および／または治療剤を提供することを課題とする。

### 発明の開示

5 上記の課題を解決するために、本発明は、その一態様として、次式（I）：

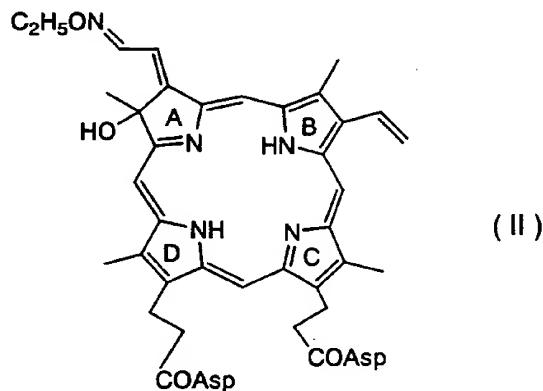


（式中、A s pは、アスパラギン酸残基を表す。）

で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を提供する。

10

また、本発明は、別の態様として、次式（II）：



（式中、A s pは、アスパラギン酸残基を表す。）

で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポル

フィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を提供する。

本発明は、さらに別の態様として、上記式（I）または上記式（II）で表されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩のそれぞれ、あるいは5 両者の混合物を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤を提供する。

本発明はそのなかでも、より具体的な態様として、動物の腫瘍の診断および／10 または治療に使用される上記式（I）または上記式（II）で表されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする動物用の光物理化学的診断および／または治療剤を提供する。

#### 図面の簡単な説明

第1図は、本発明のNOEt-P-Asp (I) のナトリウム塩について、その赤外線吸収スペクトルを示した図である。15

第2図は、本発明のNOEt-P-Asp (I) のナトリウム塩について、その組織集積性（癌／臓器濃度）の結果を示すグラフである。

グラフにおいて、曲線1は癌／脳；曲線2は癌／肝臓；曲線3は癌／肺；曲線4は癌／筋肉；曲線5は癌／腎臓；曲線6は癌／血清の結果を示す。20

#### 発明を実施するための最良の形態

本発明が提供する式（I）あるいは式（II）のポルフィリン化合物は、単一成分であり、安定かつ腫瘍組織に対する良好な集積性を維持したまま、正常組織からの排出速度が速い。したがって光毒性を低減されており、しかもチタンサフ25 アイヤレーザー（670 nm以上および600 nm以下の波長）ならびに半導体レーザー（670 nm）の使用が可能なものである点に特徴を有する。

また、本発明者の一人が法則性を見出したアルブミンテストおよびダンシルメチオニンテストにより、上記式（I）ポルフィリン化合物を評価したところ、強い腫瘍組織への移行性、光増感作用を有することが確認できた。

なお、アルブミンテストとは、クロリン誘導体とアルブミンの混合物における紫外線吸収スペクトルの動向を判定し、癌への親和性を簡単に測定する方法である。また、ダンシルメチオニンテストとは、薄層クロマトグラフィーや高速液体クロマトグラフィーにより、光に対する反応の強弱を簡単に評価する方法である（特開平5-97857号）。

10 本発明が提供する式（I）あるいは式（II）で示されるポルフィリン化合物は、以下のようにして製造される。

すなわち、プロトポルフィリンジメチルエステル（以下、「PP-Me」と略記する場合もある）を原料とし、このPP-Meに対して、アルデヒド基を有するクロリン誘導体に変化するクロリン化工程（a）を行い、次いで、得られたクロリン誘導体のアルデヒド基に、O-エチルヒドロキシルアミンを縮合させ、O-エチルイミノ基を導入する工程（b）に付した後、アスパラギン酸をアミド結合させる工程（c）を順次実施することにより製造することができる。

この場合において、工程（b）と工程（c）の順序は必ずしもこの順で行う必要はなく、先に工程（c）のアスパラギン酸との縮合によりアミド結合させる工程（工程c）を行った後、アルデヒド基に、O-エチルヒドロキシルアミンを縮合させてO-エチルイミノ基を導入する工程（b）を行っても、目的とするポルフィリン化合物を効率よく製造することが可能である。

以下に、各工程を詳細に説明する。

25 先ず、最初のクロリン化工程（a）は、J. E. Falk著 [Porphyrins and Metalloporphyrins] (Elsevier発

行、1975年) およびD. Dolphin著 [The Porphyrins] (Academic Press発行、1978年) 等に記載されている慣用手段により行うことができる。

すなわち、クロリン化工程 (a) により、PP-Meを光反応処理に付し、7  
5 -ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル  
(以下、「P-Me (I)」と略記する場合もある)、および、4つテトラピロール環のうち、A環およびB環における側鎖官能基の位置異性体である、2-ヒ  
ドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル(以  
下、「P-Me (II)」と略記する場合もある)の混合物に変換する。

10 この混合物は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーまたは適当な溶媒を用い  
る再結晶法により、P-Me (I) およびP-Me (II) にそれぞれ分離・精  
製される。なお、この段階でP-Me (I) およびP-Me (II) の両者をそ  
れぞれ分離することなくそのまま次の工程 (b) へ付すことも可能である。

15 次いで、工程 (b) は、例えば、上記で分離・精製されたP-Me (I) のア  
ルデヒド基にO-エチルヒドロキシリルアミン塩酸塩を反応させて、O-エチルイ  
ミノ基を導入する。この反応は、一般有機化学実験書中〔ヒドロキシリルアミンと  
アルデヒド化合物との縮合反応〕に記載された通常の方法により行うことができる  
る。

20 例えば、反応に関与しない適当な溶媒中で、水酸化アルカリ、アルカリ金属炭  
酸化物等の無機塩基、あるいはピリジン、ピペリジンのような有機塩基の縮合剤  
の存在下に反応を行うことで、容易に目的とするO-エチルイミノ基を導入する  
ことができる。なかでも、ピリジン、ピペリジン等の有機塩基を、縮合剤ならび  
に反応溶媒として使用することにより、効率よく実施することができる。かくし  
て目的とする7-ヒドロキシ-8-エトキシリミノエチリデン-プロトポルフィ  
リンジメチルエステル(以下、「NOEt-P-Me (I)」と略記する場合

もある)へ誘導される。

なお、他の位置異性体であるP-Me(II)も同様の方法により、O-エチルイミノ化し、目的とする2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル(以下、「NOEt-P-Me(II)」と略記する場合もある)へ誘導される。

次いで、工程(c)により、例えば、上記で製造されたNOEt-P-Me(I)は、常法によりアルカリ加水分解した後、アスパラギン酸エステル、例えば、アスパラギン酸メチルエステルあるいはアスパラギン酸ジメチルエステルを反応させてアミド結合化させ、アスパラギン酸誘導体担持のポルフィリン化合物へ誘導する。

この反応は、泉屋ら著〔ペプチドの合成の基礎と実験〕(丸善発行、1985年)等に記載された常套の方法により行うことができる。特に、特開昭64-61481号、特公平7-25763号、特開平2-138280号、特開平4-59779号、特開平5-97857号および特開平9-124652号等に記載された方法にしたがって実施すればよい。

この反応は、要はポルフィリン化合物の側鎖にアスパラギン酸残基を導入するのであるから、ポルフィリン化合物の側鎖カルボキシル基と、アスパラギン酸のアミノ基との間で反応を進行させればよい。したがって、反応においては、ポルフィリン化合物の側鎖カルボキシル基および/またはアスパラギン酸のアミノ基を、常法により反応性置換基へ変換しておくか、あるいは両者に存在する反応に関与することが好ましくない官能基を適当に保護しておくことを、適宜考慮すべきである。

なお、反応は適当な溶媒中で、適宜脱水剤や脱酸剤のような反応促進剤を存在させることができ、そのような反応促進剤としては、例えば、ジシクロヘキシカルボジイミド(DCC)や、水溶性カルボジイミドWSCを挙げることが

できる。

かくして、上記の反応により、例えば、NOEt-P-Me (I) は、アルカリ加水分解した後、アスパラギン酸ジメチルエステルとアミド結合化され、7-ヒドロキシ-8-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリンジアスパラ  
5 ギン酸ジメチルエステル（以下、「NOEt-P-Asp(OMe) (I)」と略記する場合もある）へ誘導される。

なお、前記した工程 (b) で得られたNOEt-P-Me (II) も同様にアスパラギン酸ジメチルエステルとアミド結合化され、2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-プロトポルフィリンジアスパラギン酸ジメチルエステ  
10 ル（以下、「NOEt-P-Asp(OMe) (II)」と略記する場合もある）へ誘導される。

次いで、上記で得られたNOEt-P-Asp(OMe) (I) あるいはNOEt-P-Asp(OMe) (II) を、例えばエタノールに溶解・懸濁させた後、例えば水酸化ナトリウム水溶液により加水分解を行い、本発明の目的化合物である式 (I) あるいは式 (II) のポルフィリン化合物のナトリウム塩を得ることができる。

また、これらのナトリウム塩は、適当な弱酸で処理することにより、本発明の目的化合物である式 (I) あるいは式 (II) のポルフィリン化合物の遊離カルボン酸へ導くこともできる。

かくして本発明のポルフィリン化合物として、以下の化合物が提供される。

(1) 13, 17-ビス [(1, 2-ジカルボキシエチル) カルバモイルエチル] -3-エテニル-7-ヒドロキシ-8-エトキシイミノエチリデン-  
25 2, 7, 12, 18-テトラメチルポルフィリン（以下、「NOEt-P-Asp (I)」と略記する場合もある）、

(2) 13, 17-ビス [ (1, 2-ジカルボキシエチル) カルバモイルエチル ] -8-エテニル-2-ヒドロキシ-3-エトキシイミノエチリデン-2, 7, 12, 18-テトラメチル-ポルフィリン (以下、「N O E t -P-A s p (I I )」と略記する場合もある)

5

本発明で提供されるポルフィリン化合物は、動物用の、光物理化学的診断および／または治療用に使用される。この場合の製剤化は、自体公知の方法により行われる。本発明のポルフィリン化合物が遊離酸の場合には適当な緩衝液、あるいはナトリウム塩の場合には生理食塩水で溶解するだけで目的とする製剤を調製することができる。好適な添加剤としては、例えば医薬的に許容される溶解補助剤 (例えば有機溶媒) 、pH調整剤 (例えば酸、塩基、緩衝液) 、安定化剤 (例えばアスコルビン酸) 、賦形剤 (例えばグルコース) 、等張化剤 (例えば塩化ナトリウム)などを配合してもよい。

本発明のポルフィリン化合物は、PDT用の光増感剤として必要十分な特性、すなわち、長寿命、特定臓器、特に腫瘍に対する特異的集積性、ダンシルメチオニン評価による光殺細胞効果、吸収波長、水溶性、純度などを十分に満足しているものである。

本発明により提供されるポルフィリン化合物は、その良好な水溶性により、高濃度 (50 mg / ml) の製剤化を可能にする。また更に試験管内だけでなく、生体内においても高い安定性を発揮する。したがって、本発明の化合物を動物の光物理化学的診断および／または治療用に使用する場合には、一般に、PDT用光増感剤として、本発明の化合物を 1 mg ~ 10 mg / kg 体重の量で投与するのが好ましい。

25 本発明が提供するポルフィリン化合物は、ポルフィリン骨格の側鎖にアミノ酸残基、特にアスパラギン酸残基を有し、さらにエトキシイミノ基を有する点に構

造上の特徴を有する。その結果、種々の生理学的もしくは薬理学的特性を発揮する。

その特性として、腫瘍細胞に選択的に集積し、かつ腫瘍細胞からの排泄が遅いことが挙げられる。しかしながら、正常な臓器や細胞からは速やかに排泄される  
5ため、正常臓器や細胞には損傷を与えることはなく、光毒性の発現を回避することができる。

また、ポルフィリンをクロリン誘導体とすることにより、吸収波長がレッドシフトし、これによって深部の腫瘍に対しても治療効果を発揮することが可能となつた。

10 したがって、本発明が提供するポルフィリン化合物は、動物における癌、悪性腫瘍に対するPDT薬剤として極めて有用なものである。

### 実施例

以下に本発明を、実施例ならびに試験例により、更に詳細に説明する。

15 実施例1：

7-ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル[P-Me (I)] および位置異性体である2-ヒドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリン ジメチルエステル[P-Me (II)] の混合物の合成

20 R. K. Dineillらの方法 [The Porphyrins, Academic Press発行、Vol. 1, 303 (1978)] に準じて合成した。すなわち、プロトポルフィリン ジメチルエステル (P P-Me) 100 g をクロロホルム 10 L に溶解し、光照射下一週間反応させることにより、ポルフィリンのクロリン誘導体を得た。反応終了後、反応液を減圧濃縮し、標記化合物  
25 の混合物を含む残渣 100 g を得た。

**実施例2：****反応混合物からP-Me (I) およびP-Me (II) の分離**

上記実施例1で得た混合物を、ジクロルメタン-ヘキサン混合液で処理し、不溶物（原料のPP-Me）を、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付して除去した後、濾液を濃縮し、残渣を酢酸エチルにて再結晶し、さらにピリジン-ジクロルメタンにて再結晶し、目的とする7-ヒドロキシ-8-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル[P-Me (I)]を得た。また、再結晶濾液から、位置異性体である2-ヒドロキシ-3-オキソエチリデン-プロトポルフィリンジメチルエステル[P-Me (II)]を得た。

10

**実施例3：****P-Me (I) とP-Me (II) のO-エチルイミノ化および加水分解**

上記実施例2で得られたP-Me (I) およびP-Me (II) の各10gを別々に秤量し、ピリジン190mlに夫々溶解した。各溶液にO-エチルヒドロキシリアミン・塩酸塩(3g)を加え、50℃にて1.5時間反応させた。反応終了後、反応液を水中に注ぎ、結晶を析出させ、濾取し、水洗後乾燥を行い、目的とするO-エチルイミノP-Me (I) [NOEt-P-Me (I)] およびO-エチルP-Me (II) [NOEt-P-Me (II)] をそれぞれ定量的に得た。

20

次いで、上記で得たNOEt-P-Me (I) およびNOEt-P-Me (II) の全量を夫々別々にピリジンに溶解させ、各溶液に水酸化ナトリウム水溶液を加え、常法により加水分解を行った。反応終了後、反応液を中和し、析出した沈殿物を濾取し、水洗後乾燥し、さらに酢酸エチル-ヘキサン混合溶液にて精製を行い、目的とするNOEt-P (I) およびNOEt-P (II) をそれぞれ定量的に得た。

25

実施例4：

NOEt-P(I) およびNOEt-P(II) のアスパラギン酸誘導化

(a) 上記実施例3で得たNOEt-P(I) およびNOEt-P(II) の各2 gを別々に秤量し、それぞれをテトラヒドロフランに溶解させた後、ジシクロヘキシリルアミン(DCHA)にて常法によりDCHA塩化し、ヘキサンにより洗浄し、DCHA塩を得た。

(b) 次いで、上記で得たそれぞれのDCHA塩をジメチルホルムアミドに溶解し、アスパラギン酸ジメチルエステル(AspOMe<sub>2</sub>)の塩酸塩を加えた後、さらに水溶性カルボジイミドWSCを加え、反応を行った。反応の終点をTLCにて確認後、各反応液に水を加えて沈殿を析出させ、濾取後水洗し、風乾した。得られた沈殿物を酢酸エチルーアセトン混合溶液に溶解後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに付し、精製後、エタノールより再結晶し、目的とするNOEt-P-Asp(OMe)(I) およびNOEt-P-Asp(OMe)(II) を暗緑色結晶として得た。

実施例5：

NOEt-P-Asp(I) およびNOEt-P-Asp(II) の製造

上記の実施例4で得たNOEt-P-Asp(OMe)(I) およびNOEt-P-Asp(OMe)(II) の各1 gを別々に秤量し、それをエタノールに溶解後、水酸化ナトリウム水溶液を加え、常法により加水分解を行った。反応終了後(TLCにて反応終点を確認)、反応液にエタノールを加えて沈殿を析出させ、濾取した。得られた沈殿物を更に水に溶解させ、これにエタノールを加えて再沈殿を行い精製した。以上の操作により、NOEt-P-Asp(OMe)(I) からは、本発明の目的化合物であるNOEt-P-Asp(I) のナトリウム塩を、また、NOEt-P-Asp(OMe)(II) からは、本発明の別の目的化合物であるNOEt-P-Asp(II) のナトリウム塩を得た。M

S : 9 5 5 (M<sup>+</sup>)

NOE t-P-A s p (I) のナトリウム塩の赤外線吸収スペクトルを、第1図に示す。

5 実施例 6 :

組織集積性の評価

結腸癌 C o l o n 2 6 癌細胞を移植した 1 4 ~ 2 1 日目の C 3 H / H e マウス (1群5匹) に、注射用蒸留水にて溶解した NOE t-P-A s p (I) のナトリウム塩を 1 0 mg / k g 静注した後、採血ならびに癌を含む各臓器を摘出し、得られた各器官に N<sub>2</sub>-p u l s e d l a s e r (N<sub>2</sub>, 3 3 7 nm, 2 n s, 4 0 0 ~ 1, 0 0 0 nm) を照射し、励起蛍光スペクトルを測定して、4 7 0 nm の NADH のピーク強度を基準として 6 0 0 ~ 9 0 0 nm の波長を検討した (N<sub>2</sub>-PLS (N<sub>2</sub>-p u l s e d l a s e r s p e c t r o p h o m e t r y) の表面蛍光法による試験化合物の生体内分布の測定)。すなわち、4 7 0 nm でのピーク強度を基準値 1 として、6 7 0 nm でのピーク強度を算出することにより NOE t-P-A s p (I) のナトリウム塩の癌/臓器 (または血清) 濃度比を求めた。第 2 図に、薬剤投与後 1 ~ 2 4 時間後の結果を示す。NOE t-P-A s p (I) のナトリウム塩は腫瘍組織への集積性が高いことが確認された。

20

実施例 7 :

ダンシルメチオニンを用いる光増感酸化反応の評価

基質 (ダンシルメチオニン) 1 0 μ M をクロロホルム 1 m l に溶解し、本発明の光増感剤 (NOE t-P-A s p (I) Na 塩) 0. 1 μ M を加え、攪拌下に Cold Spot PICL-SX (N i p p o n P. I. C o., L t d .) (ハロゲンランプ、1 5 0 W, 8 0, 0 0 0 L u x) で照射した。光照射 1

分間毎に反応液をTLC板 (Kieselgel 60 F 254) にスポットし、クロロホルム-メタノール (3:2) で展開後、UVランプ (254 nm) でダンシルメチオニンとその酸化生成物 (ダンシルメチオニン スルホキシド) を確認した。TLC板上でダンシルメチオニンが完全に消失した時間を反応終了時間とし、光増感剤の光酸化反応の強弱を比較検討した。

対照光増感剤として、Photofrin II (登録商標) を用いた。

その結果を、第1表に示した。表中の数値は、反応完了時間を分で示し、この値 (分) が小さければ小さいほど光酸化反応が強いことを意味する。

表中の結果からも明らかなように、本発明の光増感剤は、Photofrin II (登録商標) より光酸化反応が強いことを示している。

第1表

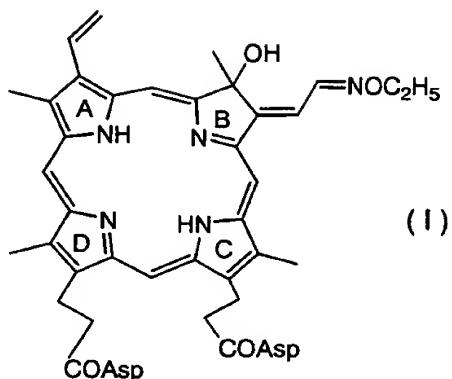
化合物名	光反応の強さ
Photofrin II	10<
NOEt-P-Asp (I) Na 塩	4
NOEt-P-Asp (II) Na 塩	4

#### 産業上の利用の可能性

以上記載のように、本発明のポルフィリン化合物は、腫瘍細胞への集積性、外部エネルギーに対する反応性ならびに腫瘍細胞の破壊作用を有し、しかも正常細胞に対して毒性を発現しないことより、動物用の腫瘍治療剤あるいは腫瘍診断薬として極めて有用である。

## 請求の範囲

1. 次式 (I) :



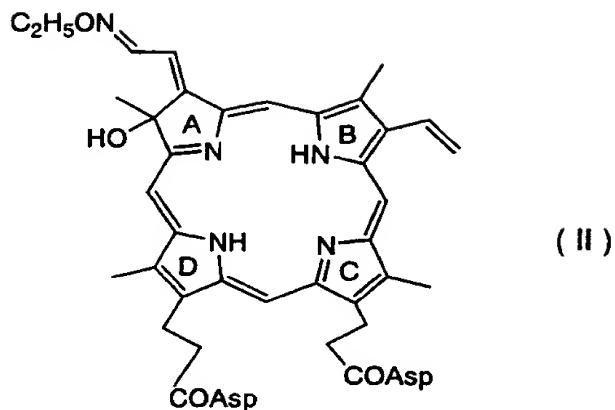
5 (式中、A s pは、アスパラギン酸残基を表す。)

で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩。

2. 請求の範囲第1項に記載の式 (I) で示されるポルフィリン化合物または  
10 その薬理学的に許容される塩を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断およ  
び／または治療剤。

3. 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求の範囲第2項に記  
載の光物理化学的診断および／または治療剤。

4. 次式 (II) :



(式中、A s pは、アスパラギン酸残基を表す。)

で示される、動物用の光物理化学的診断および／または治療用に使用されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩。

5

5. 請求の範囲第4項に記載の式（I I）で示されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤。

10 6. 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求の範囲第5項に記載の光物理化学的診断および／または治療剤。

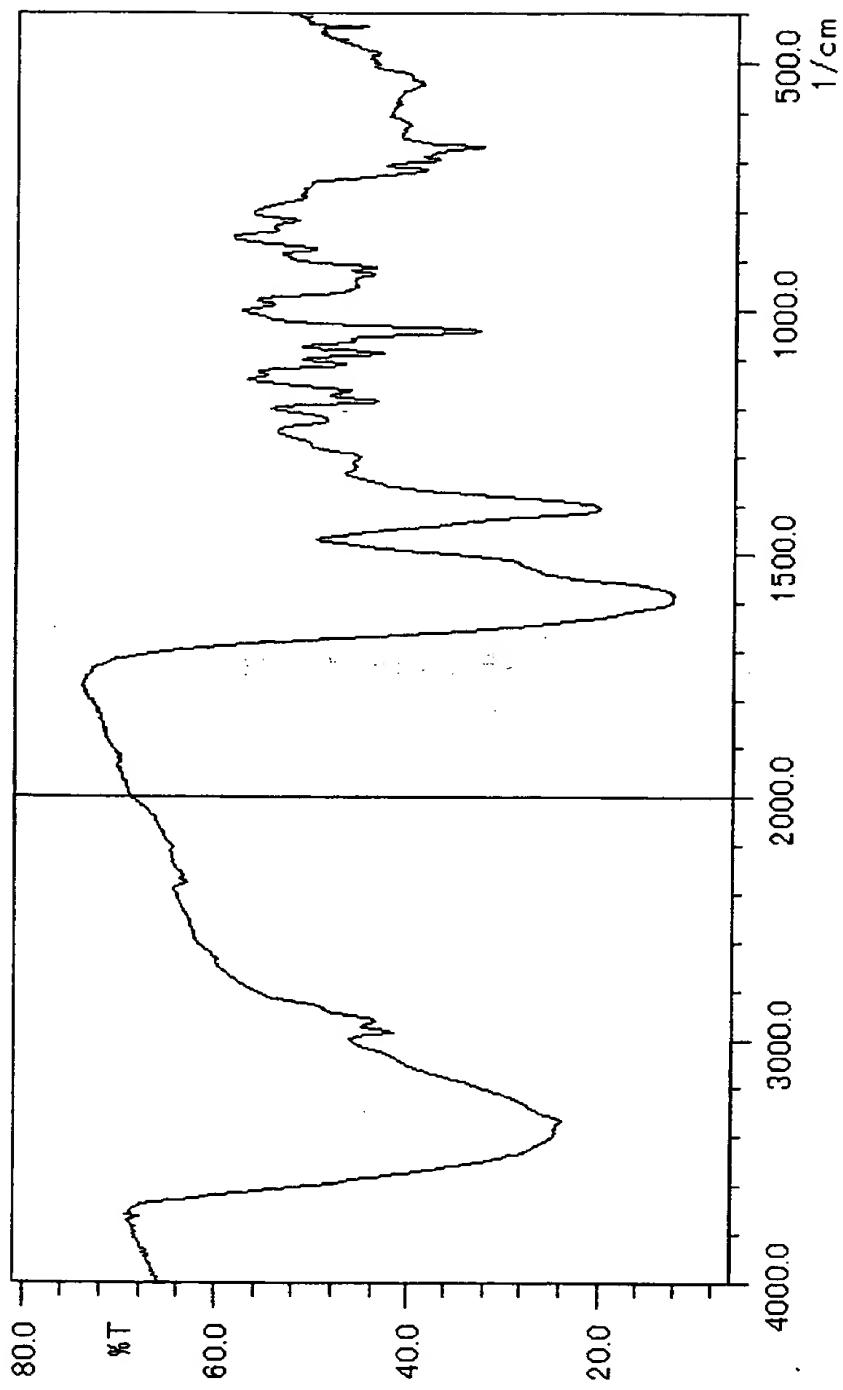
7. 請求の範囲第1項に記載の式（I）および請求の範囲第4項に記載の式（I I）で示されるポルフィリン化合物またはその薬理学的に許容される塩の混合  
15 物を有効成分とする、動物用の光物理化学的診断および／または治療剤。

8. 動物の腫瘍の診断および／または治療に使用される請求の範囲第7項に記載の光物理化学的診断および／または治療剤。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

1/2

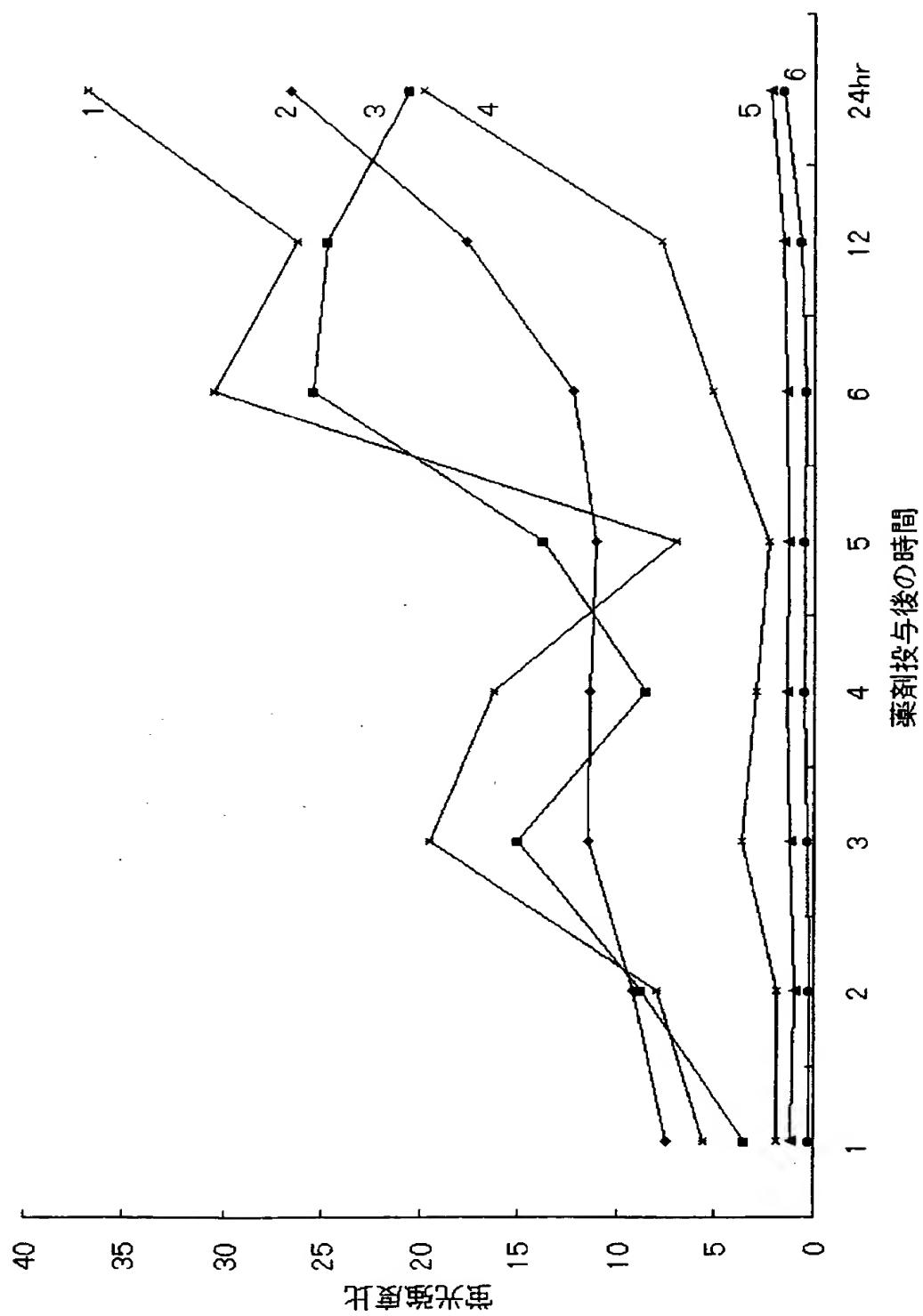
第1図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

2/2

第2図



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/08386

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00, A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 9-124652, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 13 May, 1997 (13.05.97), Full text (Family: none)	1-8
Y	JP, 5-97857, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 20 April, 1993 (20.04.93), Full text (Family: none)	1-8
A	JP, 4-59779, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 26 February, 1992 (26.02.92) (Family: none)	1-8

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier document but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
14 February, 2001 (14.02.01)

Date of mailing of the international search report  
27 February, 2001 (27.02.01)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/08386

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00, A61P35/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 9-124652, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 13 May, 1997 (13.05.97), Full text (Family: none)	1-8
Y	JP, 5-97857, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 20 April, 1993 (20.04.93), Full text (Family: none)	1-8
A	JP, 4-59779, A (Toyo Hakka Kogyo K.K.), 26 February, 1992 (26.02.92) (Family: none)	1-8

 Further documents are listed in the continuation of Box C. See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"&amp;" document member of the same patent family

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

Date of the actual completion of the international search  
14 February, 2001 (14.02.01)Date of mailing of the international search report  
27 February, 2001 (27.02.01)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



# PATENT COOPERATION TREATY

PCT

## NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

Date of mailing (day/month/year) 07 June 2001 (07.06.01)		To:  KUSAMA, Osamu Kusama Patent Office 7F Iwata Bldg. 5-12, Iidabashi 4-chome Chiyoda-ku, Tokyo 102-0072 JAPON	
Applicant's or agent's file reference PCC-38		IMPORTANT NOTICE	
International application No. PCT/JP00/08386	International filing date (day/month/year) 29 November 2000 (29.11.00)	Priority date (day/month/year) 30 November 1999 (30.11.99)	
Applicant PHOTOCHEMICAL CO., LTD. et al			



1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:

AU,KR,US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

CA,EP,JP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 07 June 2001 (07.06.01) under No. WO 01/40234

### REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a **demand for international preliminary examination** must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

### REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the **national phase**, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland  Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer  J. Zahra  Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 PCC-38	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPOO/08386	国際出願日 (日.月.年)	29.11.00	優先日 (日.月.年)
出願人(氏名又は名称) 株式会社 光ケミカル研究所			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

- a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。
    - この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
  - b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。
    - この国際出願に含まれる書面による配列表
    - この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
    - 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表
    - 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
    - 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。
    - 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。
2.  請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。
3.  発明の單一性が欠如している(第II欄参照)。
4. 発明の名称は  出願人が提出したものと承認する。  
 次に示すように国際調査機関が作成した。

## 5. 要約は

- 出願人が提出したものと承認する。
- 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1ヶ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

## 6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。  出願人が示したとおりである。  なし

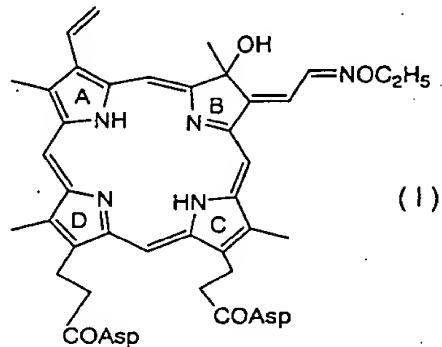
出願人は図を示さなかった。

本図は発明の特徴を一層よく表している。

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 第Ⅲ欄 要約（第1ページの5の続き）

次式（I）：



（式中、Aspは、アスパラギン酸残基を表す。）

で示される、動物用の光物理化学的診断及び／又は治療用に使用されるポルフィリン化合物、並びに、前記ポルフィリン化合物を用いた動物用の光物理化学的診断及び／又は治療剤を提供する。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 CO7D487/22, A61K31/395, A61K49/00, A61P35/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. C17 CO7D487/22, A61K31/395, A61K49/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X ✓	J P, 9-124652, A (東洋薄荷工業株式会社) 13. 5 月. 1997 (13. 05. 97), 全文参照 (ファミリーなし)	1-8
Y ✓	J P, 5-97857, A (東洋薄荷工業株式会社) 20. 4月. 1993 (20.04.93), 全文参照 (ファミリーなし)	1-8
A ✓	J P, 4-59779, A (東洋薄荷工業株式会社) 26. 2月. 1992 (26. 02. 92) (ファミリーなし)	1-8

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

14. 02. 01

## 国際調査報告の発送日

27.02.01

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官 (権限のある職員)

胡田 尚則

4 P 7918

胡田

電話番号 03-3581-1101 内線 3491

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## 国際調査報告

国際出願番号 PCT/JP00/08386

## A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. C1' C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00, A61P35/00

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. C1' C07D487/22, A61K31/395, A61K49/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

## 国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

CAPLUS(STN), REGISTRY(STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 9-124652, A (東洋薄荷工業株式会社) 13. 5 月. 1997 (13. 05. 97), 全文参照 (ファミリーなし)	1-8
Y	JP, 5-97857, A (東洋薄荷工業株式会社) 20. 4月. 1993 (20. 04. 93), 全文参照 (ファミリーなし)	1-8
A	JP, 4-59779, A (東洋薄荷工業株式会社) 26. 2月. 1992 (26. 02. 92) (ファミリーなし)	1-8

 C欄の続きにも文献が列挙されている。 パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
 「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)  
 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
 「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
 「&」同一パテントファミリー文献

## 国際調査を完了した日

14. 02. 01

## 国際調査報告の発送日

27.02.01

## 国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

## 特許庁審査官(権限のある職員)

胡田 尚則

4P 7918

電話番号 03-3581-1101 内線 3491

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**